

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

04.02.04

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2002年12月19日

出願番号
Application Number: 特願2002-367683

[ST. 10/C]: [J.P 2002-367683]

出願人
Applicant(s): 学校法人東京理科大学

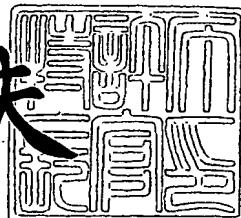
RECEIVED
25 MAR 2004
WIPO PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 3月11日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 REP02005

【提出日】 平成14年12月19日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 33/553

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県守谷市けやき台3-5-17

【氏名】 長崎 幸夫

【発明者】

【住所又は居所】 東京都中野区上鷺宮5-17-22

【氏名】 片岡 一則

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市中区西竹之丸85-1-214

【氏名】 高橋 唯仁

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市並木2-11-214-705

【氏名】 大塚 英典

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県野田市山崎2704-118

【氏名】 伊藤 徳之

【特許出願人】

【識別番号】 501384447

【氏名又は名称】 科学技術振興会

【代理人】

【識別番号】 100103447

【弁理士】

【氏名又は名称】 井波 実

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 112738

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ラテックス粒子及びその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一端にリガンド基又はリガンド導入用基を有し他端がラテックス粒子に結合するリガンド基保持部位を有し、非特異吸着性を抑制したラテックス粒子。

【請求項2】 前記リガンド基保持部位は、繰返し単位 $(CH_2CH_2O)_n$ (n : 整数) を有し、 n が 1 以上であるポリオキシエチレン鎖を有する請求項1記載のラテックス粒子。

【請求項3】 前記リガンド基又はリガンド導入用基は、

—R¹—NHR² (R¹ は二価の基又は単結合、R² は炭素数が 6 以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す)、

—R³—CHO (R³ は二価の基又は単結合を表す)、

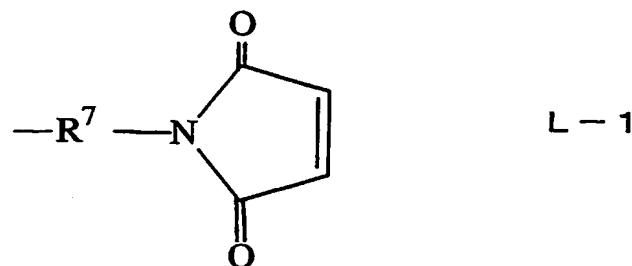
—R⁴—COOH (R⁴ は二価の基又は単結合を表す)

—R⁵—OSO₂R⁶ (R⁵ は二価の基又は単結合を表し、R⁶ は炭素数が 6 以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す)、及び

式L-1で表されるマレイミド基 (式L-1中、R⁷ は二価の基又は単結合を表す)、

からなる群から選ばれる 1 種を含む請求項1又は2記載のラテックス粒子。

【化1】



【請求項4】 繰返し単位 $(CH_2CH_2O)_m$ (m : 整数、 $m \leq n - 10$)

を有する非特異的吸着抑制部位であって一端がラテックス粒子と結合する非特異的吸着抑制部位をさらに有する請求項1～3のいずれか1項記載のラテックス粒子。

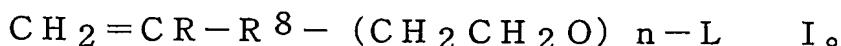
【請求項5】 一端がラテックス粒子に結合し且つ他端にアミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基からなる群から選ばれる基を有しこれによりラテックス内に第1の粒子を保持する粒子保持部位をさらに有する請求項1～4のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項6】 前記ラテックス粒子は、磁性粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる1種を少なくとも含有する請求項1～5のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項7】 前記ラテックス粒子は、磁性粒子を含有する請求項1～5のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項8】 請求項1～7のいずれか1項記載のラテックス粒子を含有する診断剤。

【請求項9】 第1のモノマーを有するモノマー群を共重合して得られるラテックス粒子であって、第1のモノマーは、式I（式I中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁸は単結合、(CH₂)_x（xは1～3の整数）、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHC0、フェニレン(C₆H₄)基、フェニレンオキシ(C₆H₄-O又はO-C₆H₄)基、又はベンジルオキシ(C₆H₄-CH₂-O又はO-CH₂-C₆H₄)基を表し、nは11～10,000の整数を示し、Lはリガンド基又はリガンド導入用基を表す）で表される、上記ラテックス粒子：



【請求項10】 前記リガンド導入用基は、

—R¹-NHR²（R¹は二価の基又は単結合、R²は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す）、

—R³-CHO（R³は二価の基又は単結合を表す）、

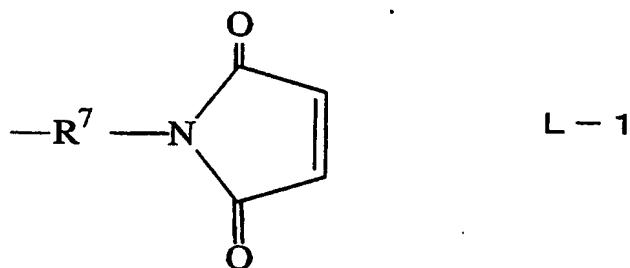
—R⁴-COOH（R⁴は二価の基又は単結合を表す）

—R⁵—OSO₂R⁶ (R⁵は二価の基又は単結合を表し、R⁶は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す)、及び

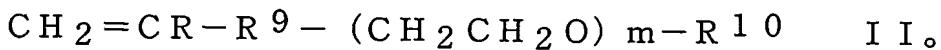
式L-1で表されるマレイミド基 (式L-1中、R⁷は二価の基又は単結合を表す)、

からなる群から選ばれる1種を含む請求項9記載のラテックス粒子。

【化2】

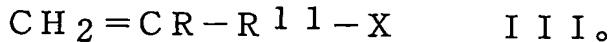


【請求項11】 前記モノマー群は、式II (式II中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁹は単結合、(CH₂)_x (xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン(C₆H₄)基、フェニレンオキシ(C₆H₄—O又はO—C₆H₄)基、又はベンジルオキシ(C₆H₄—CH₂—O又はO—CH₂—C₆H₄)基を表し、mはnよりも10以上小さい整数を示し、R¹⁰は水素、炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基を表す)で表される第2のモノマーを有する請求項9又は10記載のラテックス粒子：



【請求項12】 前記モノマー群は、式III (式III中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R¹¹は単結合、(CH₂)_x (xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン(C₆H₄)基、又はフェニレンアルキル(C₆H₄—(CH₂)_x、(x'は1～3の整数)基を表し、Xは水素、アミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基から群から選ばれる基を示す)で表

される第3のモノマーを有する請求項9～11のいずれか1項記載のラテックス粒子：



【請求項13】 前記第3のモノマーのRがメチル基であり、R¹¹がCOOCH₂CH₂であり、XがN(C₂H₅)₂である請求項12記載のラテックス粒子。

【請求項14】 前記第3のモノマーのRが水素であり、R¹¹がフェニレン基であり、XがCOOHである請求項12記載のラテックス粒子。

【請求項15】 前記モノマー群がスチレンを有する請求項9～14のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項16】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がベンジルオキシ基(C₆H₄-CH₂-O-)であり、Lがアミノ基である請求項9～15のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項17】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がベンジルオキシ基(C₆H₄-CH₂-O-)であり、Lがカルボキシル基である請求項9～15のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項18】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがアミノ基である請求項9～15のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項19】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがカルボキシル基である請求項9～15のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項20】 前記第2のモノマーにおいて、R⁹がベンジルオキシ基(C₆H₄-CH₂-O-)であり、R¹⁰が水酸基又はメチル基である請求項11～19のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項21】 前記第2のモノマーにおいて、R⁹がCOO又はOCOであり、R¹⁰が水酸基又はメチル基である請求項11～19のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項22】 前記ラテックス粒子は、磁性粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる1種を少なくとも含有する請求項9～21のいずれか

1項記載のラテックス粒子。

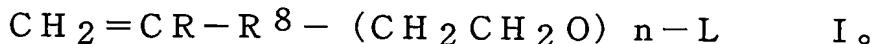
【請求項23】 前記ラテックス粒子は、磁性粒子を含有する請求項9～21のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項24】 請求項9～23のいずれか1項記載のラテックス粒子を含有する診断剤。

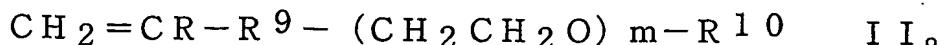
【請求項25】 (a) 式I (式I中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁸は単結合、(CH₂)_x(xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン(C₆H₄)基、フェニレンオキシ(C₆H₄-O又はO-C₆H₄)基、又はベンジルオキシ(C₆H₄-CH₂-O又はO-CH₂-C₆H₄)基を表し、nは11～10,000の整数を示し、Lはリガンド基又はリガンド導入用基を表す)で表される第1のモノマーを準備する工程；及び

(b) 第1のモノマーを有するモノマー群を共重合してラテックス粒子を得る工程；

を有する、ラテックス粒子の製造方法：



【請求項26】 前記モノマー群が式II (式II中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁹は単結合、(CH₂)_x(xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン(C₆H₄)基、フェニレンオキシ(C₆H₄-O又はO-C₆H₄)基、又はベンジルオキシ(C₆H₄-CH₂-O又はO-CH₂-C₆H₄)基を表し、mはnよりも10以上小さい整数を示し、R¹⁰は水素、炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基を表す)で表される第2のモノマーを有する請求項25記載の方法：



【請求項27】 (b) 工程の共重合の際に、磁性粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる特性付与粒子の少なくとも1種を前記モノマー群と共に存させて、前記ラテックス粒子中に前記特性付与粒子を混入させる(b-1)工程をさらに有する請求項25又は26記載の方法。

【請求項28】 (b) の共重合の際に、磁性粒子を前記モノマー群と共存させて、前記ラテックス粒子中に前記磁性粒子を混入させる (b-1') 工程をさらに有する請求項25又は26記載の方法。

【請求項29】 (b) 工程後に、磁性粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる特性付与粒子の少なくとも1種を有する第1の液体であって前記ラテックス粒子を膨潤させる第1の液体に、前記ラテックス粒子を浸漬し、その後、前記ラテックス粒子を収縮させて、前記ラテックス粒子中に前記特性付与粒子を混入させる (c) 工程をさらに有する請求項25又は26記載の方法。

【請求項30】 (b) 工程後に、磁性粒子を有する第3の液体であって前記ラテックス粒子を膨潤させる第3の液体に、前記ラテックス粒子を浸漬し、その後、前記ラテックス粒子を収縮させて、前記ラテックス粒子中に前記磁性粒子を混入させる (c') 工程をさらに有する請求項25又は26記載の方法。

【請求項31】 しがリガンド用導入基であり、(b) 工程後に得られたラテックス粒子のリガンド用導入基をリガンド基と置換又は結合させる (d) 工程をさらに有する請求項25～30のいずれか1項記載の方法。

【請求項32】 前記リガンド導入用基は、

—R¹—NHR² (R¹は二価の基又は単結合、R²は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す)、

—R³—CHO (R³は二価の基又は単結合を表す)、

—R⁴—COOH (R⁴は二価の基又は単結合を表す)

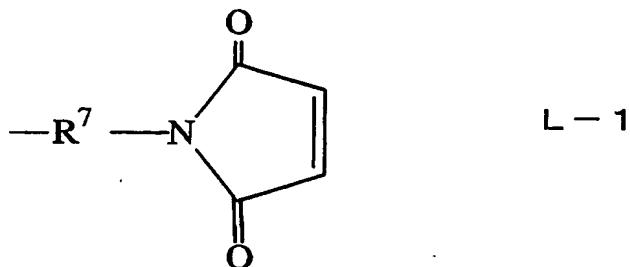
—R⁵—OSO₂R⁶ (R⁵は二価の基又は単結合を表し、R⁶は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す)、及び

式L-1で表されるマレイミド基 (式L-1中、R⁷は二価の基又は単結合を表す)、

からなる群から選ばれる1種を含む請求項25～31のいずれか1項記載の方法。

。

【化3】



【請求項33】 前記モノマー群は、式III (式III中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R¹¹は単結合、(CH₂)_x (xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン(C₆H₄)基、又はフェニレンアルキル(C₆H₄-(CH₂)_x (x'は1～3の整数)基を表し、Xは水素、アミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基から群から選ばれる基を示す)で表される第3のモノマーを有する請求項25～32のいずれか1項記載の方法：

CH₂=CR-R¹¹-X (III)。

【請求項34】 前記第3のモノマーのRがメチル基であり、R¹¹がCOOCH₂CH₂であり、XがN(C₂H₅)₂である請求項33記載の方法。

【請求項35】 前記第3のモノマーのRが水素であり、R¹¹がフェニル基であり、XがCOOHである(第3のモノマーがビニル安息香酸である)請求項33記載の方法。

【請求項36】 前記モノマー群がスチレンを有する請求項25～35のいずれか1項記載の方法。

【請求項37】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がベンジルオキシ基(C₆H₄-CH₂-O-)であり、Lがアミノ基である請求項25～36のいずれか1項記載の方法。

【請求項38】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がベンジルオキシ基(C₆H₄-CH₂-O-)であり、Lがカルボキシル基である請求項25～36のいずれか1項記載のラテックス粒子。

【請求項39】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがアミノ基である請求項25～36のいずれか1項記載の方法。

【請求項40】 前記第1のモノマーにおいて、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがカルボキシル基である請求項25～36のいずれか1項記載の方法。

【請求項41】 前記第2のモノマーにおいて、R⁹がベンジルオキシ(C₆H₄-CH₂-O)基であり、R¹⁰が水酸基又はメチル基である請求項26～40のいずれか1項記載の方法。

【請求項42】 前記第2のモノマーにおいて、R⁹がCOO又はOCOであり、R¹⁰が水酸基又はメチル基である請求項26～40のいずれか1項記載の方法。

【請求項43】 請求項25～42のいずれか1項記載の方法により得られたラテックス粒子を含有する診断剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、非特異的吸着を抑制した診断剤、並びに該診断剤の主成分として用いるラテックス粒子及びその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来より、生体分子の分離精製法として、特開平10-195099号公報(文献1)記載の方法、及びこれを発展させた特開2002-90366号公報(文献2)記載の方法が開示されている。

特開平10-195099号記載の方法は、スチレンーグリシジルメタクリレート重合体にスペーサを介して特異的親和性を有する生理活性物質をリガンドとして結合した微小粒子の特異的親和性(アフィニティ)を有するラテックス粒子を用いる方法である。しかしながら、この分離方法であっても、遠心分離法又は沈降法などの方法を探らねばならず、時間的及び/又は人的コストがかかる手法であった。また、この方法に用いるラテックス粒子は、特異的親和性を有する所望の物質の他に、不所望の物質、即ち夾雑物と非特異的に結合又は吸着する、という問題点を有していた。そのため、この方法は、それらの不所望な夾雑物を取り除く工程を設けなければならず、その点においても時間的及び/又は人的コス

トがかかる手法であった。

【0003】

特開2002-90366号公報記載の方法は、磁性により生体分子の分離精製を容易に行うことを目的として、上記文献1記載のラテックス粒子にフェライトを固定し磁性を付与したものを利用する方法である。しかしながら、磁性による分離精製は容易になるものの、不所望な夾雑物がラテックス粒子に結合又は吸着する度合いは、文献1とほぼ変わらず、不所望な夾雑物を除去する工程を別途設けなければならない、という問題点を依然として有していた。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

そこで、本発明の目的は、従来の方法における問題点を解決することにある。

具体的には、本発明の目的は、ラテックス粒子を用いた場合に生じる不所望な夾雑物の非特異的な吸着又は結合を抑制した、ラテックス粒子及び該粒子を含有する診断剤を提供することにある。

また、本発明の目的は、上記目的の他に、又は上記目的に加えて、不所望な夾雑物の非特異的な吸着又は結合を抑制し、迅速且つ容易に分離精製することができるラテックス粒子及び該粒子を含有する診断剤を提供することにある。

さらに、本発明の目的は、上記目的の他に、又は上記目的に加えて、上述のラテックス粒子の製造方法及びラテックス粒子を含有する診断剤を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、繰返し単位 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) の数の異なる、即ち長さの異なるリガンド基保持部位及び非特異的吸着抑制部位を有するラテックス粒子によって上記課題を解決できることを見出した。即ち、リガンド基保持部位は、より長い主鎖を有し他端にリガンド基を有することにより、リガンド基と特異的親和性（結合又は吸着）を有する。したがって、分離精製する対象である基と特異的に結合又は吸着することができる。一方、より短い主鎖を有する非特異的吸着抑制部位が不所望な物質がラテックス粒子と結合又は吸着することを排除できること

、即ち非特異的結合又は吸着を抑制できることを見出した。さらに、ラテックス粒子が所望の特性、例えば磁性、発光特性、吸収及び／又は吸着特性などを有することにより、該特性に応じて、分離精製を迅速且つ容易に行え得ることを見出した。即ち、本発明者らは、以下の発明により、上記課題を解決できることを見出した。

【0006】

<1> 一端にリガンド基又はリガンド導入用基を有し他端がラテックス粒子に結合するリガンド基保持部位を有し、非特異吸着性を抑制したラテックス粒子。

<2> <1>において、リガンド基保持部位は、繰返し単位 (CH₂CH₂O)_n (n:整数) を有し、nが11以上であるポリオキシエチレン鎖を有するのがよい。

【0007】

<3> <1>又は<2>において、リガンド基又はリガンド導入用基は、
-R¹-NHR² (R¹は二価の基又は単結合、R²は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す)、

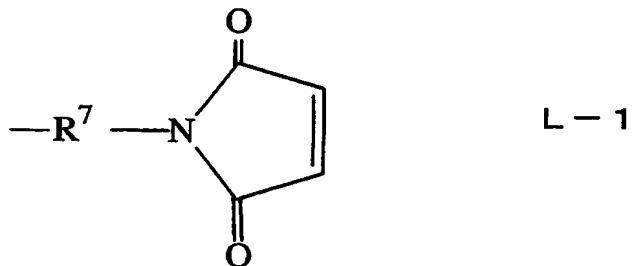
-R³-CHO (R³は二価の基又は単結合を表す)、
-R⁴-COOH (R⁴は二価の基又は単結合を表す)
-R⁵-OSO₂R⁶ (R⁵は二価の基又は単結合を表し、R⁶は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す)、及び

式L-1で表されるマレイミド基 (式L-1中、R⁷は二価の基又は単結合を表す)、

からなる群から選ばれる1種を含むのがよい。

【0008】

【化4】



【0009】

<4> <1>～<3>のいずれかにおいて、ラテックス粒子は、繰返し単位 $(CH_2CH_2O)^m$ (m : 整数、 $m \leq n - 10$) を有する非特異的吸着抑制部位であって一端がラテックス粒子と結合する非特異的吸着抑制部位をさらに有するのがよい。

<5> <1>～<4>のいずれかにおいて、ラテックス粒子は、一端がラテックス粒子に結合し且つ他端にアミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基からなる群から選ばれる基を有しこれによりラテックス内に第1の粒子を保持する粒子保持部位をさらに有するのがよい。

【0010】

<6> <1>～<5>のいずれかにおいて、ラテックス粒子は、磁性粒子、蛍光粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる1種を少なくとも含有するのがよい。

<7> <1>～<5>のいずれかにおいて、ラテックス粒子は、磁性粒子を含有するのがよい。

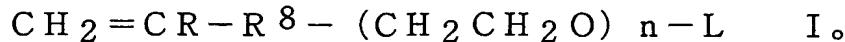
<8> <1>～<7>のいずれかのラテックス粒子を含有する診断剤。

【0011】

<9> 第1のモノマーを有するモノマー群を共重合して得られるラテックス粒子であって、第1のモノマーは、式I (式I中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁸は単結合、 $(CH_2)_x$ (x は1～3の整数)、 $CH=CH$ 、 COO 、 OCO 、 $CONH$ 、 $NHCO$ 、フェニレン (C_6H_4) 基、フェニレンオキシ (C_6H_4-O 又は $O-C_6H_4$) 基、又はベンジルオキシ ($C_6H_4-CH_2-O$ 又は $O-CH_2-C_6H_4$) 基を表し、nは1

1～10, 000の整数を示し、Lはリガンド基又はリガンド導入用基を表す)

で表される、上記ラテックス粒子：



【0012】

<10> <9>において、リガンド導入用基は、

$-R^1-NHR^2$ (R¹は二価の基又は単結合、R²は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す)、

$-R^3-CHO$ (R³は二価の基又は単結合を表す)、

$-R^4-COOH$ (R⁴は二価の基又は単結合を表す)、及び

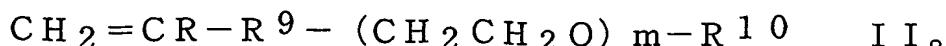
$-R^5-OSO_2R^6$ (R⁵は二価の基又は単結合を表し、R⁶は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す)

上記式L-1で表されるマレイミド基 (式L-1中、R⁷は二価の基又は単結合を表す)、

からなる群から選ばれる1種を含むのがよい。

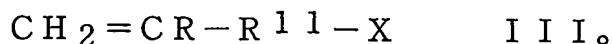
【0013】

<11> <9>又は<10>において、モノマー群は、式II (式II中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁹は単結合、 $(CH_2)_x$ (xは1～3の整数)、 $CH=CH$ 、 COO 、 OCO 、 $CONH$ 、 $NHCO$ 、フェニレン (C_6H_4) 基、フェニレンオキシ (C_6H_4-O 又は $O-C_6H_4$) 基、又はベンジルオキシ ($C_6H_4-CH_2-O$ 又は $O-CH_2-C_6H_4$) 基を表し、mはnよりも10以上小さい整数を示し、R¹⁰は水素、炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基を表す) で表される第2のモノマーを有する請求項10記載のラテックス粒子：



【0014】

<12> <9>～<11>のいずれかにおいて、モノマー群は、式III（式III中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R₁₁は単結合、 $(CH_2)_x$ （xは1～3の整数）、 $CH=CH$ 、 COO 、 OC 、 $CONH$ 、 $NHCO$ 、フェニレン (C_6H_4) 基、又はフェニレンアルキル $(C_6H_4-(CH_2)_x$ 、（x'は1～3の整数）基を表し、Xは水素、アミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基から群から選ばれる基を示す）で表される第3のモノマーを有するのがよい：



【0015】

<13> <12>において、第3のモノマーのRがメチル基であり、R₁₁が $COOCH_2CH_2$ であり、Xが $N(C_2H_5)_2$ である（第3のモノマーがメタクリル酸ジエチルアミノエチルである）のがよい。

<14> <12>において、第3のモノマーのRが水素であり、R₁₁がフェニレン基であり、Xが $COOH$ である（第3のモノマーがp-ビニル安息香酸である）のがよい。

【0016】

<15> <9>～<14>のいずれかにおいて、モノマー群がスチレンを有するのがよい。

<16> <9>～<15>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R₈がベンジルオキシ基 $(C_6H_4-CH_2-O-)$ であり、Lがアミノ基、具体的には $-R^1-NHR^2$ （R₁及びR₂は上記と同じ定義）であるのがよい。

<17> <9>～<15>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R₈がベンジルオキシ基 $(C_6H_4-CH_2-O-)$ であり、Lがカルボキシル基、具体的には $-R^3-CHO$ 又は $-R^4-COOH$ （R₃及びR₄は上記と同じ定義）であるのがよい。

【0017】

<18> <9>～<15>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R₈が COO 又は OCO であり、Lがアミノ基、具体的には $-R^1-NHR^2$ （R₁及びR₂は上記と同じ定義）であるのがよい。

<19> <9>～<15>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがカルボキシル基、具体的には-R³-CHO又は-R⁴-COOH (R³及びR⁴は上記と同じ定義) であるのがよい。

【0018】

<20> <11>～<19>のいずれかにおいて、第2のモノマーは、R⁹がベンジルオキシ基 (C₆H₄-CH₂-O-) であり、R¹⁰が水酸基又はメチル基であるのがよい。

<21> <11>～<19>のいずれかにおいて、第2のモノマーにおいて、R⁹がCOO又はOCOであり、R¹⁰が水酸基又はメチル基であるのがよい。

【0019】

<22> <9>～<21>のいずれかにおいて、ラテックス粒子は、磁性粒子、蛍光粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる1種を少なくとも含有するのがよい。

<23> <9>～<21>のいずれかにおいて、ラテックス粒子は、磁性粒子を含有するのがよい。

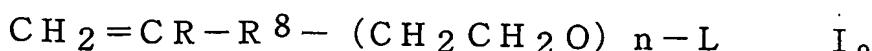
<24> <9>～<23>のいずれかのラテックス粒子を含有する診断剤。

【0020】

<25> (a) 式I (式I中、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁷は単結合、(CH₂)_x (xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニル基を表し、nは11～10,000の整数を示し、Lはリガンド基又はリガンド導入用基を表す) で表される第1のモノマーを準備する工程；及び

(b) 第1のモノマーを有するモノマー群を共重合してラテックス粒子を得る工程；

を有する、ラテックス粒子の製造方法：



【0021】

<26> <25>において、モノマー群が式II (式II中、RはH又は炭

素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁹は単結合、(CH₂)_x(xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニル基を表し、mはnよりも10以上小さい整数を示し、R¹⁰は水素、炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基を表す)で表される第2のモノマーを有するのがよい：
 $CH_2=CR-R^9-(CH_2CH_2O)_m-R^{10}$ II。

【0022】

<27> <25>又は<26>において、(b) 工程の共重合の際に、磁性粒子、蛍光粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる特性付与粒子の少なくとも1種をモノマーパークと共存させて、ラテックス粒子中に特性付与粒子を混入させる(b-1)工程をさらに有するのがよい。

<28> <25>又は<26>において、(b) の共重合の際に、磁性粒子をモノマーパークと共存させて、ラテックス粒子中に磁性粒子を混入させる(b-1')工程をさらに有するのがよい。

【0023】

<29> <25>又は<26>において、(b) 工程後に、磁性粒子、蛍光粒子、半導体粒子、及び無機粒子からなる群から選ばれる特性付与粒子の少なくとも1種を有する第1の液体であって前記ラテックス粒子を膨潤させる第1の液体に、ラテックス粒子を浸漬し、その後、ラテックス粒子を収縮させて、ラテックス粒子中に特性付与粒子を混入させる(c) 工程をさらに有するのがよい。ラテックス粒子が収縮する特性を有する第2の液体に、ラテックス粒子を浸漬して、ラテックス粒子を収縮させることもできる。

<30> <25>又は<26>において、(b) 工程後に、磁性粒子を有する第3の液体であってラテックス粒子を膨潤させる第3の液体に、ラテックス粒子を浸漬し、その後、ラテックス粒子を収縮させて、ラテックス粒子中に磁性粒子を混入させる(c')工程をさらに有するのがよい。ラテックス粒子が収縮する特性を有する第4の液体に、ラテックス粒子を浸漬して、ラテックス粒子を収縮させることもできる。

【0024】

<31> <25>～<30>のいずれかにおいて、しがりガンド用導入基であり、(b) 工程後に得られたラテックス粒子のリガンド用導入基をリガンド基と置換又は結合させる (d) 工程をさらに有するのがよい。

<32> <25>～<31>のいずれかにおいて、リガンド導入用基は、
 $-R^1-NH R^2$ (R^1 は二価の基又は単結合、 R^2 は炭素数が 6 以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す)、
 $-R^3-CHO$ (R^3 は二価の基又は単結合を表す)、
 $-R^4-COOH$ (R^4 は二価の基又は単結合を表す)、
 $-R^5-OSO_2R^6$ (R^5 は二価の基又は単結合を表し、 R^6 は炭素数が 6 以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す)、及び

上記式 L-1 で表されるマレイミド基 (式 L-1 中、 R^7 は二価の基又は単結合を表す)、

からなる群から選ばれる 1 種を含むのがよい。

【0025】

<33> <25>～<32>のいずれかにおいて、モノマー群は、式 I I I (式 I I I 中、R は H 又は炭素数 1 ～ 3 の置換又は無置換のアルキル基を示し、 R^{11} は単結合、 $(CH_2)_x$ (x は 1 ～ 3 の整数)、 $CH=CH$ 、 COO 、 OCO 、 $CONH$ 、 $NHCO$ 、フェニレン (C_6H_4) 基、又はフェニレンアルキル ($C_6H_4-(CH_2)_x$ 、(x' は 1 ～ 3 の整数) 基を表し、X は水素、アミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基から群から選ばれる基を示す) で表される第 3 のモノマーを有するのがよい：

$CH_2=CR-R^{11}-X$ I I I。

【0026】

<34> <33>において、第 3 のモノマーの R がメチル基であり、 R^{11} が $COOCH_2CH_2$ であり、X が $N(C_2H_5)_2$ である (第 3 のモノマーがメタクリル酸ジエチルアミノエチルである) のがよい。

<35> <33>において、第3のモノマーのRが水素であり、R¹¹がフェニル基であり、XがCOOHである（第3のモノマーがp-ビニル安息香酸である）のがよい。

<36> <25>～<35>のいずれかにおいて、モノマー群がスチレンを有するのがよい。

【0027】

<37> <25>～<36>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R⁸がベンジルオキシ基（C₆H₄-CH₂-O-）であり、Lがアミノ基、具体的には-R¹-NHR²（R¹及びR²は上記と同じ定義）であるのがよい。

<38> <25>～<36>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R⁸がベンジルオキシ基（C₆H₄-CH₂-O-）であり、Lがカルボキシル基、具体的には-R³-CHO又は-R⁴-COOH（R³及びR⁴は上記と同じ定義）であるのがよい。

<39> <25>～<36>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがアミノ基、具体的には-R¹-NHR²（R¹及びR²は上記と同じ定義）であるのがよい。

<40> <25>～<36>のいずれかにおいて、第1のモノマーは、R⁸がCOO又はOCOであり、Lがカルボキシル基、具体的には-R³-CHO又は-R⁴-COOH（R³及びR⁴は上記と同じ定義）であるのがよい。

【0028】

<41> <26>～<40>のいずれかにおいて、第2のモノマーは、R⁹がベンジルオキシ基（C₆H₄-CH₂-O-）であり、R¹⁰が水酸基又はメチル基であるのがよい。

<42> <26>～<40>のいずれかにおいて、第2のモノマーは、R⁹がCOO又はOCOであり、R¹⁰が水酸基又はメチル基であるのがよい。

<43> <25>～<40>のいずれかの方法により得られたラテックス粒子を含有する診断剤。

【0029】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明は、相対的に長鎖のリガンド基保持部位を有するラテックス粒子を提供し、所望により相対的に短鎖の非特異的吸着抑制部位、及び特性付与粒子保持部位を有してもよいラテックス粒子を提供する。以下、リガンド基保持部位、非特異的吸着抑制部位、特性付与粒子保持部位について、詳細に説明する。

【0030】

本発明のラテックス粒子は、一端にリガンド基又はリガンド導入用基を有し他端がラテックス粒子に結合するリガンド基保持部位を有する。

リガンド基保持部位は、繰返し単位 $(CH_2CH_2O)_n$ (n : 整数) を有し、 n が 11 以上、好ましくは n が 11 ~ 10, 000、より好ましくは n が 25 ~ 1, 000、最も好ましくは n が 80 ~ 300 であるポリオキシエチレン鎖を有するのがよい。

【0031】

後述する非特異的吸着抑制部位も、繰返し単位 $(CH_2CH_2O)_m$ (m : 整数) を有するポリオキシエチレン鎖を有するのがよいが、リガンド基保持部位の n は、非特異的吸着抑制部位の m よりも 10 以上大きい整数であるのがよい。即ち、リガンド基保持部位のポリオキシエチレン鎖は、非特異的吸着抑制部位のそれよりも長鎖であるのがよい。相対的に短鎖のポリオキシエチレン鎖を有する非特異的吸着抑制部位により、不所望の物質が本発明のラテックス粒子と非特異的吸着するのを抑制する一方、相対的に長鎖のポリオキシエチレン鎖を有するリガンド基保持部位により、そのリガンド基と所望の物質が特異的に吸着・結合することができる。

【0032】

また、リガンド基保持部位は、相対的に長鎖を有するため、非特異的吸着抑制部位及びラテックス粒子とによる立体障害が抑制され、所望の物質との結合及び／又は吸着を立体配置的にも促進することができる。

本発明のラテックス粒子において、リガンド基は、所望の物質と特異的に結合及び／又は吸着する機能を有する基であるのがよい。例えば、リガンド基として、生理活性的に受容体－供与体として作用する受容体又は供与体、抗原－抗体作

用を生じる抗体又は抗原、糖、オリゴDNAなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0033】

また、本発明のラテックス粒子において、リガンド導入用基は、上述のリガンド基を本発明のラテックス粒子に導入することができる基であるのがよい。例えば、リガンド導入用基として、アミノ基、カルボキシル基、スルホニル基（アルキル（又はアリール）スルホニル基）、マレイミド基などを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0034】

より詳細には、リガンド導入用基として、 $-R^1-NH-R^2$ （ R^1 は二価の基又は単結合、 R^2 は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、又は置換又は無置換のベンジル基を表す）、 $-R^3-CHO$ （ R^3 は二価の基又は単結合を表す）、 $-R^4-COOH$ （ R^4 は二価の基又は単結合を表す）、 $-R^5-OSO_2R^6$ （ R^5 は二価の基又は単結合を表し、 R^6 は炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基、置換又は無置換のメチルフェニル基、置換又は無置換のフルオロアルキル基を表す）、及び上記式L-1で表されるマレイミド基などを挙げることができるが、これらに限定されない。

なお、リガンド導入用基は、上記のうちの1種を含むのがよい。即ち、上記の基の1種のみからなっても、上記の基を2種以上含んでも、上記の基を1種以上と他の基（例えばOH基、アミノ基）とを含んでもよい。2種以上を含む場合、それらの基は任意の割合で含ませることができる。

【0035】

本発明のラテックス粒子は、上述のように、一端がラテックス粒子に結合し、繰返し単位（ CH_2CH_2O ） m （ m ：整数、 $m \leq n - 10$ ）を有する非特異的吸着抑制部位を有するのがよい。

上述のように、非特異的吸着抑制部位のポリオキシエチレン鎖の繰返し単位の数は、リガンド基保持部位のそれよりも10以上小さい。このように、ポリオキシエチレン鎖の長さに短長を設けることにより、上述のような効果を奏すこと

ができる。

ポリオキシエチレン鎖の長さを示すmは、nよりも10以上小さい整数であるのがよく、nに依存するが、mは20~1,000、好ましくは30~200であるのがよい。

【0036】

本発明のラテックス粒子は、一端がラテックス粒子に結合し且つ他端にアミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基からなる群から選ばれる基を有しこれによりラテックス内に第1の粒子を保持する粒子保持部位をさらに有するのがよい。

【0037】

粒子保持部位により、種々の特性を有する第1の粒子をラテックス内に保持することができる。第1の粒子として、種々の無機粒子及び有機粒子、特に無機粒子を挙げることができ、例えば磁性を有する磁性粒子、蛍光特性を有する蛍光粒子、半導体特性を有する半導体粒子などを挙げることができるが、これらに限定されない。特に、第1の粒子が磁性粒子であれば、得られるラテックス粒子を各種の診断剤として用いる場合に好ましい。即ち、ラテックス粒子が診断剤として用いられる場合、ラテックス粒子は、リガンド保持部位を介して所望の物質と特異的に結合及び/又は吸着する。これらのラテックス粒子を収集するために、該ラテックス粒子が磁性を有していれば、磁性を用いてその収集を促進させることができる。

【0038】

磁性粒子として、フェライト、ネオジウムなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

蛍光粒子として、有機又は無機蛍光粒子を挙げることができる。例えば無機蛍光粒子として、ユーロピウム(Eu)及びテルビウム(Tb)などのランタノイド系金属；並びに粒径がナノメータオーダーの半導体、例えばCdS、CdSe、ZnS、ZnSe、InPなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

半導体粒子として、例えばCdS、CdSe、ZnS、ZnSe、InPなど

を挙げることができるが、これらに限定されない。

無機粒子として、シリカ、ゼオライトなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0039】

また、粒子保持部位の他端に有する基は、第1の粒子に依存して設けることができる。例えば、第1の粒子が磁性粒子、特にフェライトである場合、粒子保持部位の他端に有する基は、アミノ基又はカルボキシル基であるのがよい。

【0040】

本発明のラテックス粒子は、他の面として、以下に示す第1のモノマーを有し、所望により第2のモノマー及び第3のモノマーを有するモノマーパターンを共重合して得ることができる。

第1のモノマーは、式Iによって表すことができる。



【0041】

ここで、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁸は単結合、(CH₂)_x(xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン(C₆H₄)基、フェニレンオキシ(C₆H₄-O又はO-C₆H₄)基、又はベンジルオキシ(C₆H₄-CH₂-O又はO-CH₂-C₆H₄)基を表し、nは11以上、好ましくは11～10,000、より好ましくは25～1,000、最も好ましくは80～300の整数を示し、Lはリガンド基又はリガンド導入用基を表す。

【0042】

第1のモノマーは、Lとしてリガンド基又はリガンド導入用基を有する。したがって、上述のリガンド保持部位は、第1のモノマー由来とすることができる。Lであるリガンド基又はリガンド導入用基として、上述と同じ基を挙げができる。

【0043】

第1のモノマーとして、例えばR⁸がp-ベンジルオキシ(C₆H₄-CH₂-O)基であり、Lがアミノ基、具体的には-R¹-NHR²(R¹及びR²は

上述と同じ定義である) であるモノマー; R⁸がp-ベンジルオキシ (C₆H₄-CH₂-O) 基であり、Lがカルボキシル基、具体的には-R³-CHO又は-R⁴-COOH (R³及びR⁴は上述と同じ定義である) であるモノマー; R⁷がCOO又はOCOであり、Lがアミノ基、具体的には-R¹-NHR² (R¹及びR²は上述と同じ定義である) であるモノマー; R⁷がCOO又はOCOであり、Lがカルボキシル基、具体的には-R³-CHO又は-R⁴-COOH (R³及びR⁴は上述と同じ定義である) であるモノマー;などを挙げができるが、これらに限定されない。

【0044】

本発明のラテックス粒子は、上記の第1のモノマーの他に第2のモノマーをモノマー群に含めて、これらを共重合して得ることができる。

第2のモノマーは、式IIによって表すことができる。



【0045】

ここで、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R⁹は単結合、(CH₂)_x (xは1～3の整数)、CH=CH、COO、OCO、CONH、NHCO、フェニレン (C₆H₄) 基、フェニレンオキシ (C₆H₄-O又はO-C₆H₄) 基、又はベンジルオキシ (C₆H₄-CH₂-O又はO-CH₂-C₆H₄) 基を表し、mはnよりも10以上小さい整数を示し、R¹⁰は水素、炭素数が6以下の置換又は無置換のアルキル基、置換又は無置換のフェニル基、置換又は無置換のベンジル基を表す。

【0046】

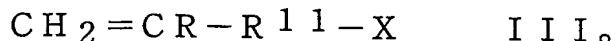
第2のモノマーは、第1のモノマーよりも短鎖のポリオキシエチレン基を有する。したがって、上述の非特異的吸着部位は、第2のモノマー由来とすることができる。

第2のモノマーとして、例えばR⁹がベンジルオキシ (C₆H₄-CH₂-O) 基であり、R¹⁰が水酸基又はメチル基であるモノマー; R⁹がCOO又はOCOであり、R¹⁰が水酸基又はメチル基であるモノマーを挙げができるが、これらに限定されない。

【0047】

本発明のラテックス粒子は、上記の第1のモノマーの他に、又は上記第1のモノマー及び第2のモノマーの他に、第3のモノマーをモノマー群に含めて、これらを共重合して得ることができる。

第3のモノマーは、式I I Iによって表すことができる。



【0048】

ここで、RはH又は炭素数1～3の置換又は無置換のアルキル基を示し、R¹¹は単結合、 $(CH_2)_x$ （xは1～3の整数）、 $CH=CH$ 、 COO 、 OCO 、 $CONH$ 、 $NHCO$ 、フェニレン(C_6H_4)基、又はフェニレンアルキル($C_6H_4 - (CH_2)_x$ 、(x'は1～3の整数)基を表し、Xは水素、アミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基から群から選ばれる基を示す。

【0049】

第3のモノマーは、X基、即ちアミノ基、カルボキシル基、シアノ基、アミド基、ウレタン基、及びウレア基などを有する。したがって、これらの基によって、種々の特性を有する第1の粒子をラテックス内に保持することができ、上述の粒子保持部位は、第3のモノマー由来とすることができます。なお、種々の特性を有する第1の粒子は、上記と同じものを挙げることができる。

【0050】

第3のモノマーとして、Rがメチル基であり、R¹¹が $COOCH_2CH_2$ であり、XがN(C_2H_5)₂、即ちメタクリル酸ジエチルアミノエチル；Rが水素であり、R¹¹がフェニル基であり、Xが $COOH$ 、即ちp-ビニル安息香酸；などを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0051】

本発明のラテックス粒子となるモノマー群には、上記第1～第3のモノマーの他に、ラテックス形成のためのモノマー、その他種々の特性をラテックスに付与するモノマーを含めることができる。例えば、モノマー群に含めるのがよいラテックス形成のためのモノマーとして、疎水性ビニルモノマー、特にビニル芳香族

化合物、例えば置換又は無置換のスチレン、1-ビニルナフタリン、より具体的にはスチレン、 α -メチルスチレン、エチルスチレン、p-ブロモスチレン、ビニルトルエン、t-ブチルスチレンなどを挙げることができる。その他にも、(メタ)アクリル酸C₁—C₄アルキル、例えばアクリル酸メチル、メタクリル酸メチル、アクリル酸エチル、メタクリル酸エチル、アクリル酸n-ブチル、メタクリル酸n-ブチル；置換又は無置換の共役ジエン、例えばブタジエン、イソブレンなどを挙げることができる。このうち、スチレンは、コストの面、及びその特性としての硬さの点で好ましい。

【0052】

上述した、本発明のラテックス粒子は、次のような方法により得ることができる。即ち、本発明のラテックス粒子の製造方法は、上述の第1のモノマーを準備する(a)工程；及び第1のモノマーを有するモノマーパークを共重合してラテックス粒子を得る(b)工程を有する。

【0053】

上述のように、モノマーパークは、所望により第2のモノマー及び/又は第3のモノマー、並びに第1～第3のモノマー以外のモノマーを含んでもよい。なお、第1～第3のモノマーとして、上述のモノマーを同様に用いることができる。また、その他のモノマーとしても、上述のモノマー、例えばスチレンを用いることができる。

【0054】

モノマーパーク100wt%中、第1のモノマーの量は、粒子分散性、非吸着特性などの点から、90wt%以下、好ましくは80～3wt%、より好ましくは60～5wt%であるのがよい。モノマーパークが第2のモノマーを含む場合、第2のモノマーの量は、80wt%以下、好ましくは70～2wt%、より好ましくは50～5wt%であるのがよい。モノマーパークが第3のモノマーを含む場合、第3のモノマーの量は、95wt%以下、好ましくは90～10wt%、より好ましくは80～20wt%であるのがよい。

【0055】

種々の特性をラテックス粒子に付与する第1の粒子(特性付与粒子)は、次の

工程により、ラテックス粒子中に取り込むことができる。

即ち、上記（b）工程の際に、モノマー群と共に存させて、ラテックス粒子中に第1の粒子（特性付与粒子）を混入させることができる。

【0056】

また、（b）工程後、第1の粒子（特性付与粒子）を有する第1の液体であつてラテックス粒子を膨潤させる第1の液体に、得られたラテックス粒子を浸漬し、その後、ラテックス粒子を収縮させてラテックス粒子中に特性付与粒子を混入させることもできる。なお、ラテックス粒子の収縮の際、ラテックス粒子を収縮させる特性を有する第2の液体にラテックス粒子を浸漬して、収縮を促進することもできる。

【0057】

例えば、ラテックス粒子が粒子保持部位としてアミノ基を有する場合、第1の液体として酸性の液体、第2の液体としてアルカリ性の液体を挙げることができます。即ち、酸性の液体に第1の粒子（特性付与粒子）を含め、該酸性の液体にラテックス粒子を浸漬すると、ラテックス粒子は膨潤する。膨潤中に第1の粒子（特性付与粒子）がラテックス粒子内に入り込む。その後、ラテックス粒子をアルカリ性の液体に浸漬すると、ラテックス粒子は収縮し、ラテックス粒子内に第1の粒子（特性付与粒子）が取り込まれる。

【0058】

また、その他のモノマーとしてスチレンを用い、該スチレンのモノマー比が高いモノマー群を用いて得られたラテックス粒子の場合、第1の液体として水／アセトン混合溶媒を挙げることができる。水／アセトン混合溶媒に第1の粒子（特性付与粒子）を予め含ませておき、該混合溶媒にラテックス粒子を浸漬する。浸漬中にラテックス粒子は膨潤し、該膨潤ラテックス粒子内に第1の粒子（特性付与粒子）が混入する。浸漬後、ラテックス粒子を乾燥し、水／アセトン混合溶媒を除去することにより、第1の粒子（特性付与粒子）をラテックス粒子内に取り込むことができる。

【0059】

（b）工程により得られたラテックス粒子が、リガンド導入用基を有する場合

、さらに該リガンド導入用基に代えて、又は該リガンド導入用基を用いて、リガンド基を置換又は結合させる（d）工程を有するのがよい。なお、リガンド基及びリガンド導入用基として、上述で挙げた基を用いることができる。

【0060】

本発明は、例えば上述の方法によって得られた、上述のラテックス粒子を含有する診断剤を提供する。診断剤は、上述のラテックス粒子が有する特性を有する。即ち、診断剤は、ラテックス粒子のリガンド保持部位（第1のモノマー由来の部位）により、所望の物質と特異的に結合及び／又は吸着することができる。また、診断剤は、ラテックス粒子の非特異的吸着抑制部位（第2のモノマー由来の部位）により、不所望の物質との非特異的吸着又は結合を抑制することができる。さらに、診断剤は、ラテックス粒子内に取り込まれた特性付与粒子の特性を有することができる。例えば、特性付与粒子が磁性粒子の場合、該磁性を利用する事により、所望の物質のみを特異的に結合又は吸着したラテックス粒子を磁気的操作により、迅速に分離することができる。

【0061】

【実施例】

以下、実施例に基づいて、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は本実施例に限定されるものではない。

【0062】

（実施例1）

＜V B-P E G-N H₂ の合成＞

アルゴン下、反応容器に0.25m o l/Lアセトン-K⁺ THF溶液（8mL、2mm o l）及び2m o l/Lビニルベンジルアルコール（V B A）THF溶液（1mL、2mm o l）を加え30分間攪拌した後、エバポレータにより溶媒を除去した。残存物（メタル化したV B A）をTHF（10mL）に溶解させた後、再度エバポレートすることではほぼ完全にアセトンの除去を行った。その後、反応容器に溶媒としてTHF（40mL）を加えメタル化したV B Aを溶解した。

【0063】

次にエチレンオキシド（EO；11.2 mL、228 mmol、仕込み分子量5000）を加え水冷下で2日間攪拌し重合を行った。少量をサンプリングした後、GPC測定を行いPEGの分子量を確認した。停止反応はEO重合後の反応溶液にトリエチルアミン（1.39 mL、10 mmol）を加えた溶液を、メタノスルホニルクロライド（「MSC」と略記する場合がある、0.465 mL、6 mmol）／THF（20 mL）溶液に1時間30分かけて滴下することで行った。精製はエーテル沈殿、ベンゼン凍結乾燥、減圧乾燥により行い、末端をメタンスルホニル（MS）化したVB-PEG-MSを得た。

【0064】

得られたVB-PEG-MSに28%アンモニア水溶液（200 mL、およそ15000倍モル量）を加え室温で1日間攪拌した。その後、エバポレータによりアンモニアの除去、溶液の濃縮を行った。濃縮した溶液を蒸留水に対して透析することで精製を行い（透析膜：MWCO1000（Spectrum Laboratory社製）、2日間、蒸留水を5回交換）、その後凍結乾燥することにより、VB-PEG-NH₂を得た。

【0065】

ゲル浸透クロマトグラム（GPC）により、PEGの分子量が6000程度（繰返し単位（CH₂CH₂O）：130～140個に相当）であることを確認した。回収したポリマーの収量は11.3 gであった（仕込み総量11.967 g）。

図示しないVB-PEG-MSの¹H-NMRチャートの積分値からVB及びMSの導入率を計算するとほぼ100%導入されていることがわかった。

【0066】

＜磁性ラテックス粒子A-1の調製＞

5wt%ポリビニルアルコール（PVA）水溶液（40 mL）を有する反応容器に上述で得たVB-PEG-NH₂（0.5 g、繰返し単位（CH₂CH₂O）：130～140個に相当）、ポリ（エチレングリコール）メチルエーテルメタクリレート50wt%水溶液（アルドリッヂ、分子量：2,000、4.8 mL、0.25 g、繰返し単位（CH₂CH₂O）：45～50個に相当）、フェ

リコロイド（F C、1 mL）、スチレン（S t、3. 3 mL、3 g）、過硫酸カリウム（K P S）（0. 2 g）を加え、攪拌しながらアスピレーターを用いて減圧脱気した。その後、減圧の系内をアルゴンを詰めることで常圧にした。i) 減圧脱気後、ii) アルゴンで常圧にする、というi) 及びii) の一連の作業を3回繰り返した。スリーワンモーターを用いて500 r p m、60°Cで36時間攪拌した後、磁性ラテックス粒子A-1を有する溶液を回収した。回収した溶液を適量（10～20 mL程度）の蒸留水に1滴加え、軽く溶液を振って分散させた後、強力な磁石を用いて磁性ラテックス粒子A-1を沈降させた。上澄みを取り除き、沈降した磁性ラテックス粒子A-1を再度蒸留水に分散させた。その後、上澄み及び沈殿を分散させた溶液の動的光散乱（D L S）測定を行い、その結果、磁性ラテックス粒子A-1の粒径は、0. 67 μ mであった。

【0067】

＜磁性ラテックス粒子A-2の調製＞

5 w t % P V A水溶液（40 mL）を有する反応容器に上述で得たV B-P E G-NH₂（0. 5 g）、ポリ（エチレンギリコール）メチルエーテルメタクリレート50 w t %水溶液（アルドリッヂ、分子量：2, 000、4. 8 mL、0. 25 g）を加え、H C 1を用いてp H 4にした。その後、F C（1 mL）、S t（3. 3 mL、3 g）、K P S（0. 2 g）を加え、攪拌しながらアスピレーターを用いて減圧脱気し、減圧の系内をアルゴンを詰めることで常圧にした。i) 減圧脱気後、ii) アルゴンで常圧にする、というi) 及びii) の一連の作業を3回繰り返した。スリーワンモーターを用いて500 r p m、60°Cで48時間攪拌した後、磁性ラテックス粒子A-2を有する溶液を回収した。回収した溶液を適量（10～20 mL程度）の蒸留水に1滴加え、軽く溶液を振って分散させた後、強力な磁石を用いて磁性ラテックス粒子A-2を沈降させた。上澄みを取り除き、沈降した磁性ラテックス粒子A-2を再度蒸留水に分散させた。その後、上澄み及び沈殿を分散させた溶液のD L S測定を行い、その結果、磁性ラテックス粒子A-2の粒径は、0. 51 μ mであった。

【0068】

＜P E G化磁性ナノ粒子の非特異吸着特性の確認＞

遠心分離と磁石とを用いた分離により精製した磁性ラテックス粒子A-2（濃度：2.5 mg/mL）及びカルボン酸表面基を有する市販フェライトビーズB-1（濃度：2.5 mg/mL）を調製し、この両サンプル溶液を3 mLずつ取り、永久磁石上に配置したネジ口試験管中で静置した。ここで磁石に引かれて沈殿したものと上澄みを分離して、上澄みを捨て新たにPBSを3 mL加えてVoltex（10 s、speed 8）洗浄、上澄み除去という操作を3回繰り返した。これに45 mg/mLのBSA（人体中とほぼ同濃度）3 mLを加え、室温1時間静置した。1時間後に磁石で粒子を固定し上澄みのBSA-PBSを除去しこれにPBS 3 mLを加えてVoltex（10 s、speed 8）で粒子をリノスし、上澄みを除去する操作を3回繰り返した後、SDS-PBS 2.5 mLに1時間浸漬させて粒子表面に付着したBSAを剥がしとった。1時間後Voltex（10 s、speed 8）で粒子をリノスし、この上澄み液2 mLにBCA溶液2 mLを加え60℃で1時間インキュベートした。1時間後UV-vis分光計で波長562 nmにおける吸光度を測定した。予め作成した検量線より吸着BSA濃度を算出した。

【0069】

算出された結果、磁性ラテックス粒子のBSA吸着量は約0.0015 mg/mLであり、フェライトビーズのそれ（0.02 mg/mL）の約13分の1であった。また初期BSA濃度（45 mg/mL）の約27800分の1の量であることがわかった。この非特異吸着の減少の主因は粒子の周りを覆うPEGの高い運動性によって、タンパク質を排除しているものと考えられる。そのため裸のFe粒子（フェライト粒子）との差が大きく現れたものと考えられる。

【0070】

<ビオチン化磁性ラテックス粒子及びビオチン化フェライトビーズの調製>
<<フェライトビーズB-1のビオチン化>>

2.5 mg/mLフェライトビーズ超純水溶液12 mLを遠心分離（3600 rpm/30分/5℃）して、上澄みを除去して新たに超純水12 mLを加えて再分散させた。このうち6 mLを分取した。これにEDC（N-エチル-N'-(ジメチルアミノ)プロピルカルボジイミド）3 mL及びNHS（N-ヒドロキシスクシ

ミド) 3 m l の混合溶液を加え 10 分間静置した。10 分後、該混合溶液を遠心分離 (3600 rpm/20 分/5 ℃) して上澄みを除去し、新たに超純水 6 m l を加えて再分散させた。これに 1 mg/m l のビオシチンヒドラジド水溶液 1 m l を加えて 30 分間静置した。30 分後、得られた溶液を遠心分離 (3600 rpm/10 分/5 ℃) して上澄みを除去し、新たに同量の超純水を加え再分散をさせた。これに 2-アミノエタノール 3 m l を加えて 20 分間静置した。これを遠心分離 (3600 rpm/5 分/5 ℃) して上澄みを除去し、新たに超純水を加えるという操作を 3 回繰り返し、ビオチン化フェライトビーズ B-2 を得た。

【0071】

<<磁性ラテックス粒子 A-1 のビオチン化>>

2. 5 mg/m l 磁性ラテックス A-2 水溶液 4 m l を遠心分離 (10,000 rpm/30 分/5 ℃) して上澄みを除去後、同量の超純水を加え 0.1 mg/m l の活性エステルビオチンを 2 m l 加えて 20 分間静置した。その後 0.15 mol/dm³ NaCl 水溶液で洗浄し、ビオチン化磁性ラテックス粒子 A-3 を得た。

【0072】

ビオチン化磁性ラテックス粒子 A-3、磁性ラテックス粒子 A-1、ビオチン化フェライトビーズ B-2、及びフェライトビーズ B-1 の 4 種類の粒子水溶液を各 100 μL (粒子濃度 2.5 mg/mL) とり、テキサスレッドストレプトアビジン (texasredstreptavidin) 0.01 mg/mL (6.7 × 10⁻⁷ モル/L)、FITC-BSA 0.045 mg/mL (6.7 × 10⁻⁷ モル/L) を各 500 μL ずつ加えた。このまま 1 時間静置して、1 時間後に磁石で粒子を固定して慎重に試験管内の溶液を 1 mL とり、PBS 水溶液を 1 mL 加えて希釈し、Vortex で再分散させることで洗浄した。1 回洗浄する毎にテキサスレッドと FITC の蛍光画像を CCD カメラで取り込み画像解析した。

【0073】

得られた画像から、FITC-BSA 吸着量 (図 1) 及びストレプトアビジン吸着量 (図 2) の洗浄回数による変化を各々の粒子についてグラフ化した。なお、ビオチンは、アビジンと特異的な吸着又は結合を示す物質である一方、BSA

とは不所望な吸着又は結合（非特異的な吸着又は結合）を示す物質である。

【0074】

図1から、ビオチン化磁性ラテックス粒子A-3及び磁性ラテックス粒子A-1は、洗浄を2回又は3回行うことにより、BSAの吸着がほぼゼロとなっていることがわかる。一方、ビオチン化フェライトビーズB-2及びフェライトビーズB-1は、洗浄を10回行ってもBSAの吸着が観察される。このことから、ビオチン化磁性ラテックス粒子A-3及び磁性ラテックス粒子A-1は、非特異的な吸着が抑制されている一方、ビオチン化フェライトビーズB-2及びフェライトビーズB-1、特にビオチン化フェライトビーズB-2は、非特異的な吸着が観察されることがわかる。

【0075】

図2のビオチン化磁性ラテックス粒子A-3と磁性ラテックス粒子A-1との結果を比較することにより、ビオチン化磁性ラテックス粒子A-3は、複数回洗浄しても特異的な吸着又は結合により、ストレプトアビシンが吸着している一方、磁性ラテックス粒子A-1は、ビオチンを有していないため、2回洗浄を行うことにより、ストレプトアビシンの吸着量がほぼゼロとなっていることがわかる。したがって、図2から、ビオチンによる特異的吸着又は結合が観察された。

以上、図1及び図2から、ビオチン化磁性ラテックス粒子A-3は、ビオチンを有することにより特異的吸着が発現し、且つ短鎖のPEGによって非特異吸着を抑制できることが観察された。

【0076】

【発明の効果】

本発明により、ラテックス粒子を用いた場合に生じる不所望な夾雑物の非特異的な吸着又は結合を抑制した、ラテックス粒子及び該粒子を含有する診断剤を提供することができる。

また、本発明により、上記効果の他に、又は上記効果に加えて、不所望な夾雑物の非特異的な吸着又は結合を抑制し、迅速且つ容易に分離精製することができるラテックス粒子及び該粒子を含有する診断剤を提供することができる。

さらに、本発明により、上記効果の他に、又は上記効果に加えて、上述のラテ

ックス粒子の製造方法及びラテックス粒子を含有する診断剤を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

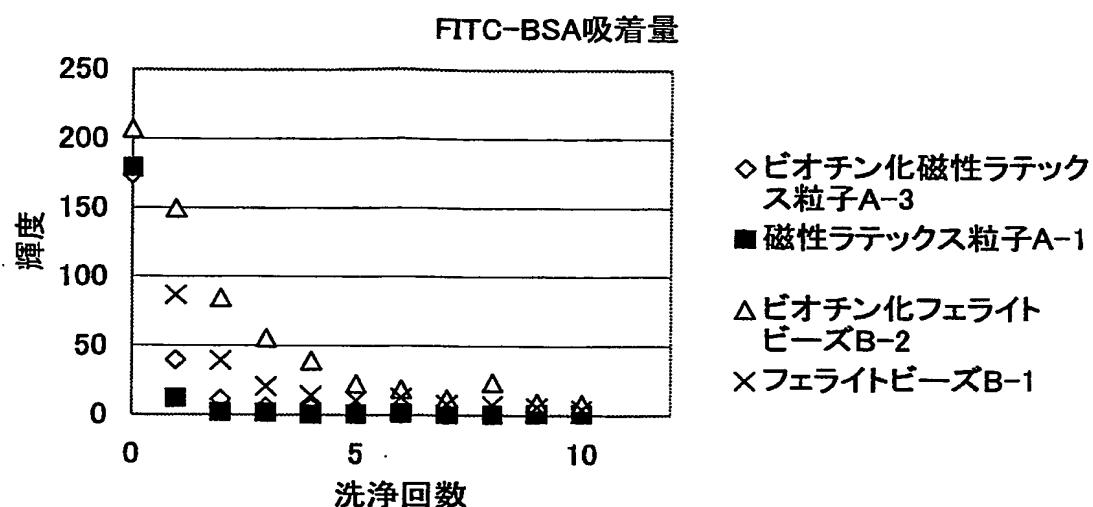
【図1】 FITC-BSA吸着量の洗浄回数による変化を各々の粒子A-1、A-3、B-1及びB-2についてグラフ化した図である。

【図2】 ストレプトアビシン吸着量の洗浄回数による変化を各々の粒子A-1、A-3、B-1及びB-2についてグラフ化した図である。

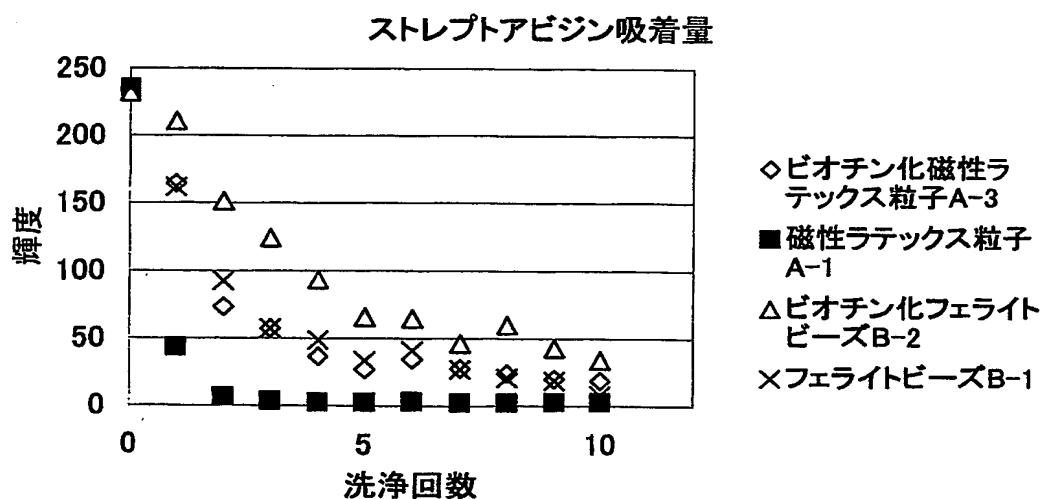
【書類名】

図面

【図1】



【図2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ラテックス粒子を用いた場合に生じる不所望な夾雜物の非特異的な吸着又は結合を抑制した、ラテックス粒子、該粒子の製造方法、及び該粒子を含有する診断剤の提供。

【解決手段】 一端にリガンド基を有し他端がラテックス粒子に結合するリガンド基保持部位であって長鎖のポリオキシエチレン鎖を有するリガンド基保持部位；一端がラテックス粒子に結合し短鎖のポリオキシエチレン鎖を有する非特異的吸着抑制部位；を有するラテックス粒子、該粒子の製造方法、及び該粒子を含有する診断剤により、上記課題を解決する。

【選択図】 なし

【書類名】 出願人名義変更届
【整理番号】 P150926-17
【あて先】 特許庁長官 今井 康夫 殿
【事件の表示】
【出願番号】 特願2002-367683
【承継人】
【識別番号】 000125370
【住所又は居所】 東京都新宿区神楽坂1丁目3番地
【氏名又は名称】 学校法人東京理科大学
【代表者】 塚本 桓世
【承継人代理人】
【識別番号】 100094547
【弁理士】
【氏名又は名称】 岩根 正敏
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 033570
【納付金額】 4,200円
【提出物件の目録】
【物件名】 承継人であることを証する書面 1
【援用の表示】 特願2001-74672の出願人名義変更届に添付のものを援用する。
【物件名】 委任状 1
【援用の表示】 特願2001-74672の出願人名義変更届に添付のものを援用する。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-367683
受付番号	50301598608
書類名	出願人名義変更届
担当官	北原 良子 2413
作成日	平成15年11月17日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成15年 9月29日
【承継人】	
【識別番号】	000125370
【住所又は居所】	東京都新宿区神楽坂1-3
【氏名又は名称】	学校法人東京理科大学
【承継人代理人】	申請人
【識別番号】	100094547
【住所又は居所】	東京都千代田区神田淡路町1丁目1番地 田村ビル6階岩根特許事務所
【氏名又は名称】	岩根 正敏

特願 2002-367683

出願人履歴情報

識別番号 [501384447]

1. 変更年月日 2001年10月 1日
[変更理由] 新規登録
住 所 東京都新宿区神楽坂1-3
氏 名 科学技術振興会

特願 2002-367683

出願人履歴情報

識別番号 [000125370]

1. 変更年月日 2001年 2月20日
[変更理由] 名称変更
住 所 東京都新宿区神楽坂1-3
氏 名 学校法人東京理科大学